



PCT

特許協力条約に基づいて公開された国際出願

<p>(51) 国際特許分類7 A61K 38/18, 45/00, A61P 25/02, 9/00, 1/00, 13/00, 3/10, 3/08, 11/00, 5/00, 27/02</p>	<p>A1</p>	<p>(11) 国際公開番号 WO00/62797</p> <p>(43) 国際公開日 2000年10月26日(26.10.00)</p>									
<p>(21) 国際出願番号 PCT/JP00/02265</p> <p>(22) 国際出願日 2000年4月7日(07.04.00)</p> <p>(30) 優先権データ</p> <table border="0"> <tr> <td>特願平11/109603</td> <td>1999年4月16日(16.04.99)</td> <td>JP</td> </tr> <tr> <td>特願平11/109604</td> <td>1999年4月16日(16.04.99)</td> <td>JP</td> </tr> <tr> <td>特願平11/168305</td> <td>1999年6月15日(15.06.99)</td> <td>JP</td> </tr> </table> <p>(71) 出願人 (米国を除くすべての指定国について) 住友製薬株式会社 (SUMITOMO PHARMACEUTICALS COMPANY, LIMITED)[JP/JP] 〒541-8510 大阪府大阪市中央区道修町2丁目2番8号 Osaka, (JP)</p> <p>(72) 発明者 ; および (75) 発明者 / 出願人 (米国についてのみ) 野々村健(NONOMURA, Takeshi)[JP/JP] 〒662-0831 兵庫県西宮市丸橋町4-15-324 Hyogo, (JP) 土田敦之(TSUCHIDA, Atsushi)[JP/JP] 〒631-0035 奈良県奈良市学園中5-705-4-516 Nara, (JP) 泰地睦夫(TAJI, Mutsuo)[JP/JP] 〒569-1044 大阪府高槻市上土室3-23-3 Osaka, (JP)</p>		特願平11/109603	1999年4月16日(16.04.99)	JP	特願平11/109604	1999年4月16日(16.04.99)	JP	特願平11/168305	1999年6月15日(15.06.99)	JP	<p>(74) 代理人 青山 葆, 外(AOYAMA, Tamotsu et al.) 〒540-0001 大阪府大阪市中央区城見1丁目3番7号 IMPビル 青山特許事務所 Osaka, (JP)</p> <p>(81) 指定国 AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, 欧州特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), ARIPO特許 (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)</p> <p>添付公開書類 国際調査報告書</p>
特願平11/109603	1999年4月16日(16.04.99)	JP									
特願平11/109604	1999年4月16日(16.04.99)	JP									
特願平11/168305	1999年6月15日(15.06.99)	JP									
<p>(54)Title: REMEDIES FOR AUTONOMIC NEUROPATHY</p> <p>(54)発明の名称 自律神経障害治療剤</p> <p>(57) Abstract Remedies for autonomic neuropathy, remedies or inhibitors for autonomic imbalance, energy metabolism improving agents or bodily heat production improving agents containing as the active ingredient neurotrophic factors (BDNF, etc.) or trk receptor agonists, whereby autonomic neuropathy induced by various causes, in particular, orthostatic hypotension, body temperature regulation failure, autonomic imbalance, energy metabolic error and bodily temperature production error caused by sympathetic nerve hypofunction can be efficaciously prevented and treated.</p>											

(57)要約

種々の原因などによる自律神経障害、特に交感神経機能低下に由来する起立性低血圧や体温調節異常、自律神経失調症、エネルギー代謝異常、体熱産生異常を効果的に防止および治療しうる、BDNFなどの神経栄養因子、あるいはtrk受容体アゴニストを有効成分として含有する自律神経障害治療剤、自律神経失調症治療剤もしくは抑制剤、エネルギー代謝改善剤または体熱産生改善剤。

PCTに基づいて公開される国際出願のパンフレット第一頁に掲載されたPCT加盟国を同定するために使用されるコード(参考情報)

AE	アラブ首長国連邦	DM	ドミニカ	KZ	カザフスタン	RU	ロシア
AG	アンティグア・バーブーダ	DZ	アルジェリア	LC	セントルシア	SD	スーダン
AL	アルバニア	EE	エストニア	LI	リヒテンシュタイン	SE	スウェーデン
AM	アルメニア	ES	スペイン	LK	スリ・ランカ	SG	シンガポール
AT	オーストリア	FI	フィンランド	LR	リベリア	SI	スロヴェニア
AU	オーストラリア	FR	フランス	LS	レソト	SK	スロヴァキア
AZ	アゼルバイジャン	GA	ガボン	LT	リトアニア	SL	シエラ・レオネ
BA	ボスニア・ヘルツェゴビナ	GB	英国	LV	ルクセンブルグ	SN	セネガル
BB	バルバドス	GD	グレナダ	MC	モナコ	SZ	スワジランド
BE	ベルギー	GE	グルジア	MD	モルドヴァ	TD	チャード
BF	ブルキナ・ファソ	GH	ガーナ	MG	マダガスカル	TG	トーゴ
BG	ブルガリア	GN	ギニア	MK	マケドニア旧ユーゴスラヴィア	TJ	タジキスタン
BJ	ベナン	GR	ギリシャ		共和国	TM	トルクメニスタン
BR	ブラジル	GW	ギニア・ビサウ	ML	マリ	TR	トルコ
BY	ベラルーシ	HR	クロアチア	MN	モンゴル	TT	トリニダード・トバゴ
CA	カナダ	HU	ハンガリー	MR	モーリタニア	TZ	タンザニア
CC	中央アフリカ	IE	アイルランド	MW	マラウイ	UA	ウクライナ
CG	コンゴ	ID	インドネシア	MX	メキシコ	UG	ウガンダ
CH	スイス	IL	イスラエル	MZ	モザンビーク	US	米国
CI	コートジボアール	IN	インド	NE	ニジェール	UZ	ウズベキスタン
CM	カメルーン	IS	アイスランド	NL	オランダ	VN	ヴェトナム
CN	中国	IT	イタリア	NO	ノルウェー	YU	ユーゴスラヴィア
CR	コスタ・リカ	JP	日本	NZ	ニュージーランド	ZA	南アフリカ共和国
CY	キプロス	KE	ケニア	PL	ポーランド	ZW	ジンバブエ
CZ	チェコ	KG	キルギスタン	PT	ポルトガル		
DE	ドイツ	KP	北朝鮮	RO	ルーマニア		
DK	デンマーク	KR	韓国				

明 細 書

自律神経障害治療剤

5 技術分野

本発明は、自律神経障害または自律神経失調症を治療するための医薬に関する。さらに、本発明は、エネルギー代謝または体熱産生を改善する医薬に関する。

背景技術

10 自律神経は、生命維持に必要な内臓、血管、分泌腺などを調整し、生体の恒常性を保つための神経系であり、全身の殆どの臓器に分布している。自律神経は、交感神経系と副交感神経系からなり、おおむね拮抗的に作用して各臓器をコントロールするが、このバランスが崩れると、自律神経障害がおこり、種々の病状が現れる。

自律神経障害は、様々な原因によって起きるが、代表的な基礎疾患としては、
15 (1) 中枢性疾患：本態性起立性低血圧、シャイ・ドレジャー症候群 (Shy-Drager Syndrome：起立性低血圧、排尿障害を主とする自律神経症状を呈する)、パーキンソン病、癲癇、多発性硬化症、脳血管障害、(2) 末梢性疾患：糖尿病、家族性アミロイドーシス、ギラン・バレー症候群、ファブリー病、中毒性 (薬物、アルコール) ニューロパチー、甲状腺機能異常、(3) 脊
20 髄損傷などが有る。また、加齢によるものや、特に原因疾患のない、いわゆる自律神経失調症も存在する (芝山幸久；Current Therapy、第16巻、4号、89-90頁 (1998年))。

自律神経障害としては例えば、循環器障害 (例えば、起立性低血圧 (失神)、運動能力低下、無痛性心筋梗塞、無痛性狭心症等)、消化器障害 (例えば、食道
25 運動異常、胃運動低下 (胃麻痺)、胃幽門部の痙攣、腸運動異常 (下痢)、腸運動低下 (便秘)、胆嚢収縮能の低下 (胆嚢症)、大腸肛門部機能異常 (便失禁)、過敏性腸症候群等)、泌尿器障害 (例えば、膀胱症 (無緊張性膀胱、排尿後失禁等)、インポテンス、射精異常等)、呼吸器障害 (例えば、呼吸機能障害、睡眠時無呼吸等)、体温調節障害 (例えば、汗腺異常 (発汗異常)、血管運動性異常

(血管収縮、血管拡張障害、神経性浮腫)等)、瞳孔障害(縮瞳、散瞳障害、Argyll-Robertson症候群等)、神経内分泌障害(胰PP(パンクレアティック・ポリペプチド)ホルモン分泌異常、ソマトスタチン分泌異常、モチリン、GIP分泌異常、ガストリン分泌異常、ノルエピネフリン分泌異常(起立障害)、副甲状腺ホルモン分泌異常、心房性利尿ホルモン(ANP)低下、無自覚低血糖症等)等がある。

自律神経障害の治療には、基礎疾患に対する治療に加え、個々の自律神経障害に対しての対症療法が採用されている。即ち、起立性低血圧に対しては、交感神経作動薬、プロスタグランジン産生阻害薬、鉍質コルチコイドなどが、消化器運動機能の改善には、コリン作動薬あるいはドーパミン拮抗薬が処方される。また、排尿障害には排尿筋弛緩薬が用いられる(「今日の治療指針—私はこうして治療している—1998年版」、医学書院発行/日野原重明、阿部正和監修、242頁)。

しかし、種々の原因によって生じる自律神経障害を統括的に治療するような医薬は現在知られていない。例えば、前述の起立性低血圧の治療剤(交感神経賦活剤など)は、消化器運動機能を抑制する可能性があり、逆に消化器運動改善剤(抗ドーパミン剤、コリン作動薬など)は覚醒度を下げ、低血圧や低体温を助長する傾向にある。また、末梢臓器での糖質や脂質の代謝や発汗活動など多くのファクターが関係する体温の調節異常については、原因疾患の治療以外、特に有効な治療方法は知られていない(「内分泌代謝異常と体温」;臨床看護、第8巻、第14号、2202-2206頁(1982年))。

生体は一定の物質的構成を維持しているが、実は絶えず部分的に外界と物質の交換している動的平衡系である。ここに起こっている化学変化を物質代謝という。物質が出入りすることはすなわちエネルギーの出入りであるから、同じ事実をエネルギーの立場から見ればエネルギー代謝といえる。

高分子からなる化学エネルギーに富む栄養物を摂取し、これを酸化分解しあるいは機械的エネルギーとなして仕事をし、あるいは熱エネルギーとして体温を保持し生活を続けている。この間熱力学第一法則(エネルギー不滅の法則)に従って、摂取するエネルギーと放出するエネルギーの間に平衡がとれている。この平

衡が維持されることが健康な状態と考えられる。

この平衡が壊れた状態、例えば、摂取エネルギー量と放出エネルギー量との差異が長期にわたれば、体脂肪量の増減となって現れ、肥満や“やせ”となると考えられている。しかし、短期のみの場合は、一時的には体重が増減しても、長期的にはおよそその体重に戻ってしまう。また、摂食量を増減させることにより摂取エネルギーを増減させても、増減した分がそのまま放出エネルギー量との差異とならないことから、平衡が壊れた状態つまりエネルギー代謝の異常がこの肥満または“やせ”の原因と考えられる。

さらに、エネルギー代謝の異常は肥満のみならず、生活習慣病に代表される種々の疾患の原因ともなる。生活習慣病は、食生活、運動習慣あるいは遺伝的要因などが、複合的に絡み合った結果、種々の代謝の異常を生じることが一因であると考えられている。

従って、放出エネルギーの量つまりエネルギー代謝を正常にする薬剤は、肥満の改善だけではなく肥満や代謝異常に起因する病態の予防剤または健康な状態に近づけるもしくは戻す薬剤になりうることを示唆するものである。

肥満や代謝異常に起因する病態としては例えば、糖尿病（具体的には、例えば2型糖尿病、1型糖尿病）、高脂血症、HDLコレステロール低下症も、動脈硬化症、高血圧、低体温症等が挙げられる。

特に糖尿病は、肥満者や過去に肥満だった人に多くみられる。また肥満者に2型糖尿病の頻度が高いことも、事実である。肥満が直接の原因で発症する2型糖尿病があるかどうかは現時点では不明だが、肥満が2型糖尿病発症の一因であることは、疑う余地がないが、必ずしも肥満を伴わなくても代謝機能の低下が糖尿病の一因となることも明らかである。

また、肥満者の死因別死亡率をみると、糖尿病が第一位で、正常体重の約4倍にまでなっている。さらに最近では、2型糖尿病にともなうインスリン抵抗性の状態が、高血圧や高脂血症、動脈硬化など他の疾患をまねく危険性が強い（インスリン抵抗性症候群）ことも注目されている。

高脂血症とは、血清脂質、主として血中の総コレステロールあるいは中性脂肪（トリグリセライド）が、基準値より高い病態である。この病態が長く続くと

種々の症状が出てくるが、なかでも動脈硬化症がもっとも重大な問題になる。近年、インスリン抵抗性を基礎として高脂血症や高血圧、糖尿病といった病態が結びついているインスリン抵抗性症候群が注目されている。肥満症の予後にとって動脈硬化疾患が大きな影響を与えることを考えるなら、肥満に合併しやすい高脂血症について積極的にアプローチする必要があるといえるだろう。

また、肥満にともなう脂質代謝異常については、高トリグリセライド血症だけでなく、HDLコレステロール低下症も、動脈硬化の予防という視点からみて重要である。また、肥満を伴わなくても、脂質代謝機能が充分でない場合も高脂血症になりやすいと言える。

肥満と高血圧が密接に関係することは、さまざまな研究によってあきらかにされている。肥満者が高血圧を合併しやすいこと、また高血圧患者に肥満者が多いことは日常よくみられ、疫学調査でも肥満者の高血圧は非肥満者の2～3倍にのぼるとされる。また高血圧の肥満者では、食塩摂取量とは関係なく、体重の減少によって血圧が低下することもあきらかになっている。

最近では、代謝異常の一つであるインスリン抵抗性が原因となって、耐糖能異常や高脂血症などとともに、高血圧の要因ともなることが注目されている（インスリン抵抗性症候群）。そこで、高血圧の治療にあたっては、単に血圧の降下をはかるだけでなく、根底にある肥満、代謝異常およびインスリン抵抗性の改善が重要になっていると考えられる。

これらの糖尿病だけでなく他のインスリン抵抗性（耐糖能異常や高脂血症）に関連した疾患については、食事療法と運動療法の併用によって、その予防と治療が行われているが充分なものではない。

以上のように肥満の改善剤または肥満または代謝異常に起因する病態（例えば、糖尿病（具体的には、例えば2型糖尿病、1型糖尿病）、高脂血症、HDLコレステロール低下症、動脈硬化症、高血圧等）の予防剤または治療剤が求められている。

一方、病中、病後または術後、さらには肉体疲労などにおいては代謝機能が十分に働かず、低栄養状態になることが知られている。このような状態において代謝を活性化しエネルギー生産を促進してやることで回復を早めたり、体質改善を

行うような改善剤が求められている。

また、代謝機能の低下などに起因する体熱産生が十分でない病態において、体温低下を抑制し、組織の保護、血液循環の改善などを行う薬剤が求められている。

一方、神経栄養因子は、生体内で標的細胞あるいは神経およびグリア細胞・シュワン細胞から供給され、神経細胞の生存維持、分化促進などの作用を示す蛋白質の総称であり、作用する神経の種類や受容体によって、多くの種類に分類されている。中でも、ニューロトロフィンとして知られる蛋白群は互いに相同性が高く、ファミリーを形成している。神経栄養因子には、神経成長因子（以下、NGFと略す）、脳由来神経栄養因子（以下、BDNFと略す）、ニューロトロフィン3（以下、NT-3と略す）、ニューロトロフィン4（以下、NT-4と略す）、ニューロトロフィン5（以下、NT-5と略す）またはニューロトロフィン6（以下、NT-6と略す）等のニューロトロフィン、毛様体神経栄養因子（以下、CNTFと略す）、グリア細胞由来神経栄養因子（以下、GDNFと略す）等がある。また、ニューロトロフィンは、p75およびtrk遺伝子産物である受容体（trkA、trkBおよび/またはtrkC）の特異的リガンドとして作用することが知られている（野々村健、畠中寛；実験医学 第13巻、376頁（1995年））。

神経栄養因子は従来より、神経変性疾患に対する治療剤としての医薬用途が研究されており、Society for Neuroscience, vol. 21, p. 1535（1995）、A. P. Mizisinには、糖尿病性の末梢神経障害に対するBDNFの薬効が示されている。BDNFが運動神経伝達速度の低下を軽減するという知見から、ニューロパチーへの効果を示唆したものである。WO 93-1300（リジェネロン社）には、種々の運動神経変性疾患に対する神経栄養因子の適用が示されている。また、W. E. Snider, Nature Neuroscience, vol. 1, no. 1, p. 5-6（1998. 5）には、BDNFの皮膚触覚への関与が示唆されている。

発明の開示

前述のように、自律神経障害または自律神経失調症を改善する薬剤およびエネルギー代謝または体熱産生を改善する薬剤が、医療現場で求められている。

本発明者らは、自律神経障害モデル動物の一種、2型糖尿病（肥満、高血糖）モデル動物に神経栄養因子の一つであるBDNFを投与したところ、以下の新発見を得た。

5 神経栄養因子は、（1）2型糖尿病モデル動物において低下している末梢臓器のノルエピネフリン含量を増加し、（2）低下している末梢臓器の機能を改善し、（3）低下している体温を上昇し、正常に保持することを見いだし本発明を完成するに至った。

10 また、更に鋭意検討を重ねた結果、神経栄養因子が、エネルギー代謝を改善することを見いだし、本発明を完成させるに至った。詳細には神経栄養因子が、体熱産生ならびに酸素消費量を亢進し、エネルギーの代謝を改善する作用を有することを見いだし、神経栄養因子を有効成分とするエネルギー代謝改善剤およびエネルギー代謝異常に起因する病態の予防剤または体熱産生改善剤を完成させるに至った。

15 すなわち本発明は神経栄養因子を有効成分とする自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤に関する。詳しくは、本発明の神経栄養因子を有効成分とする自律神経障害治療剤は、例えば、循環器障害（例えば、起立性低血圧（失神）、運動能力低下、無痛性心筋梗塞、無痛性狭心症等）、消化器障害（例えば、食道運動異常、胃運動低下（胃麻痺）、胃幽門部の痙攣、腸運動異常（下痢）、腸運動低下（便秘）、胆嚢収縮能の低下（胆嚢症）、大腸肛門部機能異常（便失禁）、過敏性腸症候群等）、泌尿器障害（例えば、膀胱症（無緊張性膀胱、排尿後失禁等）、インポテンス、射精異常等）、呼吸器障害（例えば、呼吸機能障害、睡眠時無呼吸等）、体温調節異常（例えば、汗腺異常（発汗異常）、血管運動性異常（血管収縮、血管拡張障害、神経性浮腫）等）、瞳孔異常（縮瞳、散瞳障害、Argyll-Robertson症候群等）、神経内分泌異常（膵PP（パンクレアティック・ポリペプチド）ホルモン分泌異常、ソマトスタチン分泌異常、モチリン、GIP分泌異常、ガストリン分泌異常、ノルエピネフリン分泌異常（起立障害）、副甲状腺ホルモン分泌異常、心房性利尿ホルモン（ANP）低下、無自覚低血糖症等）等に有効である。

また、神経栄養因子が、通常のエネルギー代謝が低下している状態を改善する

ことから、本発明のエネルギー代謝改善剤は、脂質代謝異常（例えば、高脂質血症、高リポ蛋白血症（一次性高リポ蛋白血症（I型高リポ蛋白血症、II型高リポ蛋白血症、IIb型高リポ蛋白血症、VI型高リポ蛋白血症、V型高リポ蛋白血症等）等）等）、または糖代謝異常の治療剤として用いることができる。また、
5 本発明の体熱産生改善剤は例えば、冷え性、低体温症の改善剤、冷所における体温低下の抑制剤または低下した体温を正常に近づけるもしくは戻す剤、凍傷の予防剤としても用いることができる。また本発明のエネルギー代謝改善剤は、病中、病後のまたは手術後の低栄養状態におけるエネルギー産生を効率化する体質改善剤または体力消耗時の滋養強壮剤としても用いることができる。また、本発明の
10 エネルギー代謝改善剤は例えば、骨格筋のエネルギー代謝を改善または活性化、褐色脂肪細胞のエネルギー代謝を改善または活性化等を行う剤としても用いることができる。また本発明の神経栄養因子を有効成分とするエネルギー代謝改善剤または体熱産生改善剤は、インスリン欠乏またはインスリン抵抗性もしくはインスリン感受性低下の糖尿病患者においても有効である。

15 詳しくは、本発明は：

1. 神経栄養因子を有効成分とする自律神経障害治療剤；
2. 神経栄養因子を有効成分とする自律神経失調症治療剤；
3. 自律神経失調症の原因が自律神経障害である2記載の自律神経失調症治療剤；
- 20 4. 自律神経障害が循環器障害、呼吸器障害、消化器障害、泌尿器障害、体温調節障害、瞳孔障害または神経内分泌障害である1または3記載の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤；
5. 循環器障害が起立性低血圧（失神）、運動能力低下、無痛性心筋梗塞または無痛性狭心症である4記載の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤；
- 25 6. 消化器障害が食道運動異常、胃運動低下（胃麻痺）、胃幽門部の痙攣、腸運動異常（下痢）、腸運動低下（便秘）、胆嚢収縮能の低下（胆嚢症）、大腸肛門部機能異常（便失禁）または過敏性腸症候群である4記載の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤；

7. 泌尿器障害が膀胱症（無緊張性膀胱、排尿後失禁）、インポテンス、または射精異常である4記載の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤；

8. 呼吸器障害が呼吸機能障害または睡眠時無呼吸である4記載の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤；

5 9. 体温調節障害が汗腺異常（発汗異常）または血管運動性異常（血管収縮、血管拡張障害、神経性浮腫）である4記載の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤；

10. 瞳孔障害が縮瞳、散瞳障害またはArgyll-Robertson症候群である4記載の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤；

10 11. 神経内分泌障害が膵PP（パンクレアティック・ポリペプチド）ホルモン分泌異常、ソマトスタチン分泌異常、モチリン、GIP分泌異常、ガストリン分泌異常、ノルエピネフリン分泌異常（起立障害）、副甲状腺ホルモン分泌異常、心房性利尿ホルモン（ANP）低下または無自覚低血糖症である4記載の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤；

15 12. 神経栄養因子を有効成分とするストレスが原因の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤；

13. 神経栄養因子を有効成分とする糖尿病が原因の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤；

20 14. 神経栄養因子を有効成分とする更年期障害が原因の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤；

15. 自律神経障害が、糖尿病性自律神経障害である1記載の自律神経障害治療剤；

16. 自律神経障害が、起立性低血圧である1記載の自律神経障害治療剤；

25 17. 神経栄養因子を有効成分とする末梢組織のノルエピネフリン含量低下抑制剤；

18. 末梢組織が、褐色脂肪組織、心臓および／または筋肉である17記載の末梢組織のノルエピネフリン含量低下抑制剤；

19. 神経栄養因子を有効成分とする低下している末梢臓器機能の改善剤；

20. 有効成分の神経栄養因子がNGF（神経成長因子）、BDNF（脳由来

神経栄養因子)、NT-3 (ニューロトロフィン3)、NT-4 (ニューロトロフィン4)、NT-5 (ニューロトロフィン5)、NT-6 (ニューロトロフィン6)、CNTF (毛様体神経栄養因子) またはGDTF (グリア細胞由来神経栄養因子) である1~19記載の剤;

5 21. 有効成分の神経栄養因子がBDNF (脳由来神経栄養因子) である1~19記載の剤;

 22. 有効成分の神経栄養因子がCNTF (毛様体神経栄養因子) である1~19記載の剤;

10 23. 有効成分の神経栄養因子がNT-3 (ニューロトロフィン3) である1~19記載の剤;

 24. 有効成分の神経栄養因子がNT-4 (ニューロトロフィン4) である1~19記載の剤;

 25. 有効成分の神経栄養因子がNT-5 (ニューロトロフィン5) である1~19記載の剤;

15 26. 有効成分の神経栄養因子がNT-6 (ニューロトロフィン6) である1~19記載の剤;

 27. 有効成分の神経栄養因子がNGF (神経成長因子) である1~19記載の剤;

20 28. 有効成分の神経栄養因子がGDNF (グリア細胞由来神経栄養因子) である1~19記載の剤;

 29. 有効成分の神経栄養因子がtrkA、trkBおよび/またはtrkC受容体アゴニストである1~19記載の剤;

 30. 神経栄養因子を有効成分とするエネルギー代謝改善剤;

25 31. 神経栄養因子がNGF (神経成長因子)、BDNF (脳由来神経栄養因子)、NT-3 (ニューロトロフィン3)、NT-4 (ニューロトロフィン4)、NT-5 (ニューロトロフィン5)、NT-6 (ニューロトロフィン6)、CNTF (毛様体神経栄養因子) またはGDNF (グリア細胞由来神経栄養因子) である30記載のエネルギー代謝改善剤;

 32. エネルギー代謝異常患者の治療剤である30または31記載のエネルギー

一代謝改善剤；

33. エネルギー代謝異常に起因する病態の予防剤である30、31または32記載のエネルギー代謝改善剤；

34. エネルギー代謝異常に起因する病態がインスリン非依存型糖尿病、インスリン依存型糖尿病、高脂血症、HDLコレステロール低下症、動脈硬化症または高血圧である33記載のエネルギー代謝改善剤；

35. 脂質代謝異常または糖質代謝異常を改善する30または31記載のエネルギー代謝改善剤；

36. 骨格筋のエネルギー代謝の改善剤もしくは活性化剤または褐色脂肪細胞のエネルギー代謝の改善剤または活性化剤である30または31記載のエネルギー代謝改善剤；

37. 神経栄養因子を有効成分とするエネルギー産生を効率化する体質改善剤；

38. 神経栄養因子を有効成分とする体熱産生改善剤；

39. 冷え性、低体温症の改善剤、冷所における体温低下の抑制剤もしくは低下した体温を正常に近づけるもしくは戻す剤または凍傷の予防剤である38記載の体熱産生改善剤；

40. 神経栄養因子がNGF（神経成長因子）、BDNF（脳由来神経栄養因子）、NT-3（ニューロトロフィン3）、NT-4（ニューロトロフィン4）、NT-5（ニューロトロフィン5）、NT-6（ニューロトロフィン6）、CNTF（毛様体神経栄養因子）またはGDNF（グリア細胞由来神経栄養因子）である38または39記載の体熱産生改善剤；

41. 神経栄養因子がBDNFである30、31、32、33、34、35、36、37、38または39記載のエネルギー代謝改善剤または体熱産生改善剤；

42. 神経栄養因子がNT-3である30、31、32、33、34、35、36、37、38または39記載のエネルギー代謝改善剤または体熱産生改善剤；

43. 神経栄養因子がNT-4/5である30、31、32、33、34、3

5、36、37、38または39記載のエネルギー代謝改善剤または体熱産生改善剤；

44. 神経栄養因子がNT-6である30、31、32、33、34、35、36、37、38または39記載のエネルギー代謝改善剤または体熱産生改善剤；

45. 神経栄養因子がCNTFである30、31、32、33、34、35、36、37、38または39記載のエネルギー代謝改善剤または体熱産生改善剤；

46. 神経栄養因子がNGFである30、31、32、33、34、35、36、37、38または39記載のエネルギー代謝改善剤または体熱産生改善剤；

47. 神経栄養因子がGDNFである30、31、32、33、34、35、36、37、38または39記載のエネルギー代謝改善剤または体熱産生改善剤；

48. 有効成分の神経栄養因子がtrkA、trkBおよび／またはtrkC受容体アゴニストである30、31、32、33、34、35、36、37、38または39記載のエネルギー代謝改善剤または体熱産生改善剤；等に関する。

以下、本明細書における用語の意味あるいは定義について述べる。

「神経栄養因子」とは、生体では、神経成長の標的となる細胞から分泌され、または自己分泌や傍分泌により神経（ニューロン）の成長、分化、生存を助けて、神経回路（シナプス）を形成させる生理活性物質を意味する。神経栄養因子には例えば、神経成長因子（以下、NGFと略す）、脳由来神経栄養因子（以下、BDNFと略す）、ニューロトロフィン3（以下、NT-3と略す）、ニューロトロフィン4（以下、NT-4と略す）、ニューロトロフィン5（以下、NT-5と略す）、ニューロトロフィン6（以下、NT-6と略す）等のニューロトロフィン、毛様体神経栄養因子（以下、CNTFと略す）、グリア細胞由来神経栄養因子（以下、GDNFと略す）等が含まれる。なお、公知の手法にて、神経栄養因子天然配列の一部を置換、欠失あるいは付加して作成した組換神経栄養因子変体も、同様の生理活性を有する限り、本明細書における「神経栄養因子」に含

まれる。

「trkA、trkBおよび／またはtrkC受容体アゴニスト」とは、「ニューロトロフィン」の受容体として知られるtrk遺伝子発現産物のうち、trkA、trkBまたはtrkCに結合してこれらの受容体を活性化させ、作用を
5 発現させる物質の総称である。具体的には既知のニューロトロフィンとしてtrkAに結合するNGF、trkB結合するBDNF、NT-4、trkCに結合するNT-3等が挙げられる。この概念には、それぞれの「ニューロトロフィン」の改変体（アミノ酸置換、欠失、付加改変体、糖鎖改変）のみならず、より
10 低分子のペプチド、有機化合物もtrkA、trkBまたはtrkC受容体に対する結合能および活性化能、例えばチロシン残基のリン酸化などを有する限り、
「trkA、trkBおよび／またはtrkC受容体アゴニスト」の概念に含まれる。

本明細書において、「自律神経障害」とは、交感神経系あるいは、副交感神経系の機能異常を意味する。自律神経障害は、例えば、循環器障害（例えば、起立性低血圧（失神）、運動能力低下、無痛性心筋梗塞、無痛性狭心症等）、消化器
15 障害（例えば、食道運動異常、胃運動低下（胃麻痺）、胃幽門部の痙攣、腸運動異常（下痢）、腸運動低下（便秘）、胆嚢収縮能の低下（胆嚢症）、大腸肛門部機能異常（便失禁）、過敏性腸症候群等）、泌尿器障害（例えば、膀胱症（無緊張性膀胱、排尿後失禁等）、インポテンス、射精異常等）、呼吸器障害（例えば、
20 呼吸機能障害、睡眠時無呼吸等）、体温調節障害（例えば、汗腺異常（発汗異常）、血管運動性異常（血管収縮、血管拡張障害、神経性浮腫）等）、瞳孔障害（縮瞳、散瞳障害、Argyll-Robertson症候群等）、神経内分泌障害（膵PP（パンクレアティック・ポリペプチド）ホルモン分泌異常、ソマトスタチン分泌異常、モチリン、GIP分泌異常、ガストリン分泌異常、ノルエピ
25 ネフリン分泌異常（起立障害）、副甲状腺ホルモン分泌異常、心房性利尿ホルモン（ANP）低下、無自覚低血糖症等）等が含まれる。上記疾患以外にも、現在臨床で行われている種々の自律神経機能検査で検出されうる自律神経障害はすべて本件発明の技術範囲内である。たとえば、血漿／尿中のノルエピネフリン定量、血漿中ドーパミン-β-ヒドロキシラーゼやc-AMPの定量、温熱／ピロカ

ルピン発汗テスト、起立時血圧測定 (Schellong test)、寒冷昇圧試験 (Heines-Brown test)、ノルエピネフリン投与試験、心拍数 R-R 変動などの交感神経機能検査で検出される自律神経障害が含まれる。

また自律神経障害または自律神経失調症は糖尿病、ストレス、更年期障害等の原因で発症する。

「糖尿病性自律神経障害」とは、糖尿病を基礎疾患として発症する自律神経障害の総称である。

「体温調節障害」とは、皮膚温度センサー、体温調節中枢、末梢臓器での糖質や脂質の代謝、皮膚血管運動、発汗活動など、主に自律神経系が関与する、多くの体温調節機能のうち、いずれかが異常をきたすことにより、正常な体温調節ができなくなった病態を意味する（「体温調節と自律神経」；Clinical Neurosci. 第14巻、2号、128-129頁（1996））。特に、糖尿病性ケトアシドーシス、低血糖症あるいは甲状腺機能低下症によって、生じる「低体温症」が代表的な疾患例である（「内分泌代謝異常と体温」；臨床看護、第8巻、第14号、2202-2206頁（1982年））。なお、ここで言う体温とは、皮膚体温も含むものとする（「手足の冷え、発汗異常（自律神経不安定症）」；診断と治療、第71巻、2号、262-266頁）。

「末梢組織のノルエピネフリン含量低下抑制作用」とは、筋肉や心臓などの末梢臓器のノルエピネフリン含量が低下した自律神経障害患者において、組織中のノルエピネフリンを増加させる作用を言う。この作用は、臨床においては、血漿／尿中のノルエピネフリン定量、血漿中ドーパミン-β-ヒドロキシラーゼや c-AMP の定量により、モニターされうる。

「低下している末梢組織の機能改善剤」とは、エネルギー代謝が正常レベルより低下、あるいは、体熱産生が低下した自律神経障害患者において、筋肉や褐色脂肪細胞などの末梢臓器の代謝を賦活し、正常に戻す作用を言う。この作用は、酸素消費量測定または絶食時体温測定により評価することができる。

「エネルギー代謝改善剤」とは、摂取エネルギー量と放出エネルギー量の関係が異常の患者、または摂取エネルギー量と放出エネルギー量の関係を正常にコントロールできなくなった患者において、摂取エネルギー量と放出エネルギー量の

関係をコントロールし、正常の状態に近づけるまたは正常の状態にする薬剤を意味する。言い換えれば、エネルギー代謝の障害を受けた状態またはエネルギー代謝の機能低下の起こった状態を正常の状態に近づけるまたは正常の状態にする薬剤を意味する。

- 5 「体熱産生改善剤」とは、体熱の産生の障害を受けた状態または体熱の産生の機能低下の起こった状態を正常の状態に近づけるまたは正常の状態にする薬剤、体温低下が起こった状態を正常の状態に近づけるまたは正常の状態にする薬剤、外因（寒冷地または寒冷場所）で体温低下が起こった状態を正常の状態に近づけるまたは正常の状態にする薬剤等を意味する。

10 図面の簡単な説明

- 図1は糖尿病マウスの組織内ノルエピネフリン含量に対するBDNF投与の影響を示す。*db/db*マウス（♂、12週齢投与開始）に対し、BDNFを20 mg/kgの投与量で連日皮下投与した。投与2週間後、各組織を採取し、組織内ノルエピネフリン含量を高速液体クロマトグラフシステム（HPLC）によって測定した。データは平均値±SD、*n*=6-7。*、**はそれぞれ、Studentの*t*検定にて*P*<0.05、*P*<0.01の有意差があることを示す。
□: vehicle（溶媒単独、以下同じ）投与群、■: BDNF投与群を示す。

- 図2は正常マウスの組織内ノルエピネフリン含量に対するBDNF投与の影響を示す。*BALB/c*マウス（♂、10週齢投与開始）に対し、BDNFを20 mg/kgの投与量で連日皮下投与した。投与2週間後、各組織を採取し、組織内ノルエピネフリン含量をHPLCによって測定した。データは平均値±SD、*n*=7。それぞれ、□: vehicle投与群、■: BDNF投与群を示す。

図3は*db/db*マウスのノルアドレナリン代謝回転に対するBDNF単回投与の実験スケジュールを示す。

- 25 図4は*db/db*マウスにおける褐色脂肪組織中ノルエピネフリン代謝回転に対するBDNFの影響を示す。*db/db*マウス（♂、12週齢）に対し、第2群および第4群にBDNF、200 mg/kgを、第1群および第3群には溶媒を皮下投与した。第1群および第2群は2時間後に組織を摘出した。第3群および第4群にはα-MTを腹腔内投与し、2時間後に組織を摘出した。摘出し

た組織中のNE含量をHPLCで測定した。

1 : 溶媒投与群、2 : BDNF投与群、3 : 溶媒+ α -MT投与群、4 : BDNF+ α -MT投与群。データは平均値 \pm SD、 $n=7$ 。どの臓器においても第1群と第2群間に有意な差は認められなかった。**はStudentのt検定により第3群（溶媒+ α -MT投与群）に対して $P<0.01$ の有意差があることを表す。

図5は糖尿病マウスにおけるBDNF投与による体重への影響を示す。横軸は投与群、縦軸は体重(g)を示す。カラムおよびエラーバーは平均体重と標準偏差($n=7$)を示す。##はTukeyの検定により、vehicle投与群（自由摂食）に対して $P<0.01$ の有意差があることを示す。

図6は糖尿病マウスにおけるBDNF投与による摂食量への影響を示す。横軸は投与群、縦軸は1日当たりの摂食量(g/day)を示す。カラムおよびエラーバーは平均体重と標準偏差($n=7$)を示す。##はTukeyの検定により、vehicle投与群（自由摂食）に対して $P<0.01$ の有意差があることを示す。

図7は糖尿病マウスにおけるBDNF投与による体温への影響。横軸は投与群、縦軸は体温($^{\circ}\text{C}$)を示す。カラムおよびエラーバーは平均体重と標準偏差($n=7$)を示す。##はTukeyの検定により、vehicle投与群（自由摂食）に対して $P<0.01$ の有意差があることを示す。**はTukeyの検定により、vehicle投与群（ペアフィード）に対して $P<0.01$ の有意差があることを示す。

図8は糖尿病マウスにおけるBDNF投与による酸素消費量への影響を示す。横軸は投与群、縦軸は酸素消費量(ml/hr/kg)を示す。カラムおよびエラーバーは平均体重と標準偏差($n=7$)を示す。##はTukeyの検定により、vehicle投与群（自由摂食）に対して $P<0.01$ の有意差があることを示す。**はTukeyの検定により、vehicle投与群（ペアフィード）に対して $P<0.01$ の有意差があることを示す。

図9は糖尿病マウスに対するBDNF単回投与(125mg/kg)による体温への影響を示す。横軸はBDNF投与後の時間、縦軸は体温($^{\circ}\text{C}$)を示す。◆

は vehicle 投与群 (自由摂食) ($n=3$)、■は vehicle 投与群 (絶食) ($n=3$)、△は BDNF 投与群 (絶食) ($n=3$) の各時点における平均体温を示す。エラーバーは各時点における標準偏差を示す。##は Tukey の検定により、vehicle 投与群 (自由摂食) に対して $P<0.01$ の有意差があることを示す。*、**はそれぞれ、Tukey の検定により、vehicle 投与群 (絶食) に対して $P<0.05$ 、 $P<0.01$ の有意差があることを示す。

図 10 は糖尿病マウスに対する BDNF 単回投与 (20mg/kg) による体温への影響。横軸は BDNF 投与後の時間、縦軸は体温 ($^{\circ}\text{C}$) を示す。■は vehicle 投与群 (絶食) ($n=7$)、△は BDNF 投与群 (絶食) ($n=7$) の各時点における平均体温を示す。エラーバーは各時点における標準偏差を示す。*、**は、それぞれ Student の t 検定により、vehicle 投与群 (絶食) に対して、 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ の有意差があることを示す。

図 11 は 1 型糖尿病マウスにおける BDNF 投与による体温への影響を示す。横軸は BDNF 投与後の時間、縦軸は体温 ($^{\circ}\text{C}$) を示す。■は vehicle 投与群 (絶食) ($n=4$)、△は BDNF 投与群 (絶食) ($n=4$) の各時点における平均体温 ($^{\circ}\text{C}$) を示す。**は Student の t 検定により、vehicle 投与群に対して $P<0.01$ の有意差があることを示す。

図 12 は寒冷暴露したマウスに対する BDNF 投与による体温への影響を示す。横軸は BDNF 投与後の時間、縦軸は体温 ($^{\circ}\text{C}$) を示す。■は vehicle 投与群 ($n=5$)、△は BDNF 投与群 ($n=5$) の各時点における平均体温 ($^{\circ}\text{C}$) を示す。**は Student の t 検定により、vehicle 投与群に対して $P<0.01$ の有意差があることを示す。

図 13 は db/db マウスの糖代謝に対する BDNF の作用を示す。横軸は D- $[U-^{14}\text{C}]$ -glucose 投与後の時間、縦軸は CO_2 としての ^{14}C 放出量 ($\text{dpm} \times 10^5$) を示す。■は vehicle 投与群 ($n=5$)、△は BDNF 投与群 ($n=5$) の各時点における CO_2 としての ^{14}C 放出量 ($\text{dpm} \times 10^5$) を示す。*は Student の t 検定により、vehicle 投与群に対して $P<0.05$ の有意差があることを示す。

発明を実施するための最良の形態

本発明の有効成分の神経栄養因子は市販されているか、または以下の方法で製造することができる。

5 本発明の有効成分の神経栄養因子は、医薬品として使用できるよう精製されていれば、種々の方法で調製されたものを用いることができる。神経栄養因子を産生する初代培養細胞や株化細胞を培養し、培養物（培養上清、培養細胞等）から分離精製して神経栄養因子を得ることもできる。あるいは遺伝子工学的手法により神経栄養因子をコードする遺伝子を適切なベクターに組み込み、これを適当な宿主に挿入して形質転換し、この形質転換体の培養上清から目的とする組み換え
10 神経栄養因子を得ることができる。上記の宿主細胞は特に限定されず、従来から遺伝子工学的手法で用いられている各種の宿主細胞、例えば大腸菌、枯草菌、酵母、糸状菌、植物または動物細胞などを用いることができる。

15 上記方法で得られる神経栄養因子は、各々実質的に同じ作用を持つ限り、そのアミノ酸配列の一部が欠失または他のアミノ酸により置換されていたり、他のアミノ酸配列が一部挿入されていたり、N末端および／またはC末端に1または2以上のアミノ酸が結合していたり、あるいは糖鎖が同様に欠失または置換されているものをも含む。

BDNFの製造方法：

20 遺伝子工学的手法を用いる場合、BDNFをコードする遺伝子を適切なベクターに組み込み、これを適切な宿主に挿入して形質転換し、この形質転換体の培養上清から目的とする組み換えBDNFを得ることができ（例えば、Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 88, p. 961 (1991)、Biochem. Biophys. Res. Commun. vol. 186, p. 1553 (1992)）、均質かつ大量のBDNFの生産に好適である。上記宿
25 主細胞は特に限定されず、従来から遺伝子工学的手法で用いられている各種の宿主細胞、例えば大腸菌、枯草菌、酵母、植物または動物細胞を用いることができる。

NT-3の製造方法：

NT-3はBDNFと同様に、種々の宿主細胞で発現させ、生産することがで

きる。Neuron, Vol. 4, 767-773 (1990)、あるいは特開平5-161493 (WO91/3659) にその製法、アッセイ法が開示されている。

NT-4の製造方法:

- 5 NT-4はBDNFと同様に、種々の宿主細胞で発現させ、生産することができる。Proc. Natl. Acad. Sci. USA, Vol. 89, P. 3060-3064 (1992. 4)、特表平7-509600 (WO93/25684)、あるいは特表平6-501617 (WO92/5254) に組換えNT-4発現方法およびアッセイ方法が記載されている。

10 CNTFの製造方法:

- CNTFはBDNFと同様に、種々の宿主細胞で発現させ、大量生産することができる。Biochimica et Biophysica Acta, Vol. 1090, P. 70-80 (1991)、J. Neurochemistry, Vol. 57, P. 1003-1012 (1991) に、組換えCNTF発現方法およびアッセイ方法が記載されている。また、特表平4-502916 (WO90/7341) には、組換え製法と精製方法が開示されている。
- 15

本発明の神経栄養因子を有効成分とする自律神経障害治療剤、自律神経失調症治療剤もしくは抑制剤、エネルギー代謝改善剤または体熱産生改善剤は、非経口的または経口的に投与できる。

- 20 本発明の上記薬剤の正確な投与量および投与計画は、個々の治療対象毎の所要量、治療方法、疾病または必要性の程度、および、当然医師の判断によることが必要である。非経口的投与する場合の投与量、投与回数は症状、年齢、体重、投与形態等によって異なるが、例えば注射剤として皮下または静脈に投与する場合、成人の患者の体重1kg、一日あたり約1~約2500 μ gの範囲、好ましくは
- 25 約10~約500 μ gの範囲から投与量が選択され、例えば噴霧剤として気管に投与する場合、成人の患者の体重1kg、一日あたり約1 μ g~約2500 μ gの範囲、好ましくは約10~約500 μ gから選択される。投与計画としては、連日投与または間欠投与またはその組み合わせがある。経口的投与する場合の投与量、投与回数は症状、年齢、体重、投与形態等によって異なるが、例えば、成

人の患者の体重 1 k g、一日あたり約 5 ～ 約 2 5 0 0 μ g の範囲、好ましくは約 1 0 ～ 約 1 0 0 0 μ g の範囲から投与量が選択される。

5 神経栄養因子を薬学的に許容しうる非毒性の担体と混和することから成る医薬組成物を製造することができる。このような組成物を、非経口投与用（皮下注射、筋肉注射、または静脈注射）に調製する場合は、特に溶液剤型または懸濁剤型がよく、膣または直腸投与用の場合は、特にクリームまたは坐薬のような半固形型剤型がよく、経鼻腔投与用の場合は、特に粉末、鼻用滴剤、またはエアロゾル剤型がよい。

10 組成物は一回量投与剤型で投与することができ、また例えばレミントンの製薬科学（マック・パブリッシング・カンパニー、イーストン、P A、1 9 7 0 年）に記載されているような製薬技術上よく知られているいずれかの方法によって調製できる。注射用製剤は医薬担体として、例えば、アルブミン等の血漿由来蛋白、グリシン等のアミノ酸、マンニトール等の糖を加えることができる。注射剤型で用いる場合には更に緩衝剤、溶解補助剤、等張剤等を添加することもできる。また、水溶液製剤、凍結乾燥製剤として使用する場合、凝集を防ぐために T w e e n 15 n 8 0（登録商標）、T w e e n 2 0（登録商標）などの界面活性剤を添加するのが好ましい。また注射用以外の非経口投与剤型は、蒸留水または生理食塩液、ポリエチレングリコールのようなポリアルキレングリコール、植物起源の油、水素化したナフタレン等を含有しても良い。例えば坐薬のような膣または直腸投与の製剤は、一般的な賦形剤として例えばポリアルキレングリコール、ワセリン、20 カカオ油脂等を含有する。膣用製剤では胆汁塩、エチレンジアミン塩、クエン酸塩等の吸収促進剤を含有しても良い。吸入用製剤は固体でもよく、賦形剤として例えばラクトースを含有してもよく、また経鼻腔滴剤は水または油溶液であつてもよい。

25 一回の投与により、長期間、例えば一週間ないし一年間、この発明の化合物を対象に与え続ける剤型が特に望ましい。種々の徐放剤型、デポ剤型または埋め込み投与剤型が利用できる。例えば、投与剤型は神経栄養因子そのまままたは体液中に溶解性の低い薬学的に許容しうる神経栄養因子の塩を含有しても良い。このような塩の例としては、（1）：リン酸、硫酸、クエン酸、酒石酸、タンニン酸、

パモ酸、アルギン酸、ポリグルタミル酸、ナフタレンモノまたはジスルホン酸、ポリガラクトロン酸等のような酸付加塩、(2)：亜鉛、カルシウム、ビスマス、バリウム、ニッケルのような多価金属カチオンとの塩または錯体または(1)と(2)との組み合わせ、例えばタンニン酸亜鉛塩等である。神経栄養因子を、好ましくは水難溶性塩に変換し、それをゲル、例えばアルミニウムモノステアレートゲルとごま油等と調合して好適な注射剤としてもよい。この場合特に好ましい塩は亜鉛塩、タンニン酸亜鉛塩、パモ酸塩等である。注射用徐放性製剤のもう一つの剤型は、神経栄養因子を、好ましくは水難溶性塩に変換し、それをポリ乳酸／ポリグリコール酸の重合体またはその共重合体のような崩壊性の遅い非毒性、非抗原性のポリマーに封入して含有させたものがある。この場合特に好ましい塩は亜鉛塩、タンニン酸亜鉛塩、パモ酸塩等である。その他、神経栄養因子またはその水難溶性塩をコレステロールマトリクスまたはコラーゲンマトリクス中に封入して持続性製剤化することが可能である。

経口剤としては神経栄養因子またはその塩を、レシチン、コレステロール、遊離脂肪酸と共にマイクロカプセル化したもの、それをゼラチンカプセルに封入した製剤等、神経栄養因子またはその塩を腸溶性カプセルに封入した製剤等が挙げられる。該製剤は例えば吸収促進剤、安定化剤、界面活性化剤等を含んでも良い(毒性)

ニューロトロフィン、特にBDNFの場合、ラットおよびカニクイザルで、それぞれを100mg/kg、60mg/kgの皮下投与を4週間実施したが、死亡例はなく、また、急性毒性の点についても、ラットおよびカニクイザルで200mg/kgの投与量でも死亡の発現は無く安全性は高い。

以下、本発明を実施例にて説明する。

実施例1：組織内ノルエピネフリン含量に対するBDNF投与の影響

(1) 実験材料と方法

試薬：BDNFはリジェネロン社より購入して使用した。D-PBS (GIBCO社製リン酸緩衝生理食塩液)は購入して使用した。その他の試薬は市販の特級試薬を用いた。

実験動物：疾患モデルとして雄性C57BL/Ks j - db/dbマウス (S

P F 規格) を日本クレアより購入、予備飼育の後、12週齢で実験に使用した。
また、正常動物モデルとして、雄性BALB/cマウス(SPF)を日本チャールズ・リバーより購入、予備飼育の後、10週齢より実験に使用した。

飼育環境：温度は $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度は $55 \pm 10\%$ に設定され、照明は8 :
00 ~ 20 : 00点灯、20 : 00 ~ 8 : 00消灯のサイクルに設定された部屋
で飼育した。予備飼育ならびに実験中は固形飼料(CE-2、日本クレア)および滅菌水道水を自由摂取させた。

(2) 投与液の調製

BDNF投与液はD-PBS(Gibco社)で 2.0mg/ml に希釈し、
実験に供した。

(3) ノルエピネフリン量の測定

各組織抽出液中のノルエピネフリン量を、HPLC(エイコム社)を用いて測定した。

(4) 自律神経障害モデル動物の、組織内ノルエピネフリン含量に対するBDNF投与の影響：

db/dbマウス(雄性、12週齢投与開始)を血糖値、体重を指標に2群に群分けし、それぞれ溶媒としてのD-PBS単独(vehicle)およびBDNF 20mg/kg を皮下に連日反復投与した(実験動物数；vehicle投与群：n=6、BDNF投与群：n=7)。投与2週間後、頸椎脱臼による安楽死を行った後、マウスより各組織を採取し、過塩素酸溶液中でカテコラミンを抽出した。抽出液中のノルエピネフリン量をHPLC法で測定し、採取組織重量で除して、組織内ノルエピネフリン含量を算出した。その結果を図1に示した。BDNF投与群の褐色脂肪組織、心臓、肝臓ではvehicle投与群に比して有意な組織内ノルエピネフリン含量の上昇が認められた。

(5) 正常動物の、組織内ノルエピネフリン含量に対するBDNF投与の影響：

上記(4)と同じBDNF投与条件下、BALB/cマウス各組織のノルエピネフリン含量を調べた。結果は図2に示した通り、褐色脂肪組織、肝臓、脾臓、骨格筋のいずれについても、両群間で組織内ノルエピネフリン含量に相違は認められなかった。ノルエピネフリンは交感神経系の伝達物質であることから、

(4) および (5) の結果より、BDNFは、自律神経系障害、特に交感神経機能低下を起こした動物においてのみ、交感神経系の活性化を引き起こすことが示唆された。

5 実施例2： *db/db*マウスのノルアドレナリン代謝回転に対するBDNF単回投与の影響

(1) 実験材料と方法

試薬：BDNFはリジェネロン社より購入して使用した。その他の試薬は市販の特級試薬を用いた。

10 実験動物：疾患モデルとして雄性C57BL/Ks *j-db/db*マウス (SPF規格) を日本クレアより購入、予備飼育の後、12週齢で実験に使用した。

飼育環境：温度20℃以上26℃以下、相対湿度30%以上70%以下に制御された。照明は3:00~15:00点灯、15:00~3:00消灯のサイクルに設定された部屋で飼育した。予備飼育ならびに実験中は固形飼料 (CE-2、日本クレア) および滅菌水道水を自由摂取させた。

15 (2) 投与液の調製

BDNF投与液は下記リン酸緩衝液からなる溶媒 (vehicle) で20mg/mlに希釈し、実験に供した。溶媒としては1%マンニトールと0.01% Tween 80を含むリン酸緩衝液 (10mMリン酸、150mM塩化ナトリウム、pH7.0±0.2) を用いた。

20 (3) ノルエピネフリン量の測定

各組織抽出液中のノルエピネフリン量を、HPLC (エイコム社) を用いて測定した。

(4) ノルアドレナリン代謝回転に対するBDNF単回投与の影響

25 *db/db*マウス (雄性、12週齢投与開始) を糖化ヘモグロビン (HbA1c)、および体重に偏りがないように4群に群分けし、翌日、暗時間になると同時に、第1群および第3群に溶媒 (vehicle) を、第2群および第4群にBDNF200mg/kgを皮下投与した。投与直後から給餌を中止し、以降、絶食状態とした。投与2時間後に第1群と第2群を断頭後、褐色脂肪組織を採取をした。残りの2群はNE合成阻害薬である α -MTを250mg/kgで腹腔

内投与し、 α -MT投与2時間後に断頭後、組織を採取した。採取した組織は速やかに液体窒素中で凍結し、抽出まで -80°C で保存した。過塩素酸溶液中でカテコラミンを抽出後、抽出液中のノルエピネフリン量をHPLC法で測定し、採取組織重量で除して、組織内ノルエピネフリン含量を算出した。群構成、および実験スケジュールを表1および図3に示す

表1

群番号 (動物番号)	1群 (11-17)	2群 (21-27)	3群 (31-37)	4群 (41-47)
被験物質投与量 (mg/kg)	0	200	0	200
α -MT投与量 (mg/kg)	0	0	250	250
組織採取時間 (α -MT投与後時間(h))	0	0	2	2
動物数	7	7	7	7
被験物質投与液濃度 (mg/ml)	0	20	0	20
被験物質投与液量 (ml/kg)	10	10	10	10
α -MT投与液濃度 (mg/ml)	—	—	25	25
α -MT投与液量 (ml/kg)	—	—	10	10

*被験物質0mg/kgは溶媒投与を示し、 α -MT0mg/kgは投与を行わないことを示す。

結果を図4に示した。第1群と第2群を比較すると、BDNFの投与2時間後(α -MT投与前)のノルエピネフリン含量は、溶媒投与群と比べて顕著な差は認められなかった。第3群および第4群を第1群および第2群と比較すると、 α -MTの投与2時間後では投与前に比べNE含量の低下が認められた。つまり、 α -MTによりノルエピネフリン合成が阻害されたことが確認された。このような条件下で、BDNF投与群では、溶媒投与群に比べて、顕著なノルエピネフリン含量の低下が認められた。この結果より、BDNFは、褐色脂肪中においてノルエピネフリンの代謝回転を促進することが示された。このことから、BDNFはdb/dbマウスにおいて中枢から褐色脂肪に投射する交感神経活性を亢進す

ることが示された。

実施例 3：体温調節、体熱産生ならびにエネルギー代謝に関するBDNF投与の影響

(1) 実験材料と方法

5 試薬：BDNFはリジェネロン社より購入して使用した。その他の試薬は市販の特級試薬を用いた。

実験動物：雄性C57BL/Ks j - d b / d bマウス（SPF規格）を日本クレアより購入した。2週間の予備飼育の後、12週齢で実験に使用した。マウスは飼育環境として温度は $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度は $55 \pm 10\%$ に設定され、照明
10 は8:00～20:00点灯、20:00～8:00消灯のサイクルに設定された部屋で飼育した。予備飼育中は固形飼料（CE-2、日本クレア）および滅菌水道水を自由摂取させたが、実験に供する際には必要に応じて絶食処置を施した。

(2) BDNF投与液の調製

BDNF投与液は下記リン酸緩衝液からなる溶媒（vehicle）で20mg/mlに希釈し、実験に供した。溶媒としては1%マンニトールと0.01% Tween 80を含むリン酸緩衝液（10mMリン酸、150mM塩化ナトリウム、pH7.0 \pm 0.2）を用いた。
15

(3) 体温の測定方法並びに統計解析

体温は、直腸体温計（Physitemp Instruments Inc. Model BAT-12）を用いて測定した。
20

測定値について、TukeyまたはStudentのt検定を行った。

(4) 酸素消費量の測定方法並びに統計解析

酸素消費量は小動物用代謝計測システム（室町機械、Model MK-5000）を用いて測定した。具体的には、エアタイトチャンバーにマウスを3時間
25 程度入れ、流速180ml/minの空気を通気し、酸素濃度の低下量をモニターした。マウスが安静になった状態の酸素消費量を値として採用した。測定値について、Tukeyの検定を行った。

(5) 糖化ヘモグロビン（HbA1c）値の測定

マウスの尾静脈より血液を採取し、DCA-2000（三共バイエル社）を用

いて測定した。

(6) 血糖値の測定

マウスの尾静脈より血液を採取し、グルコースCIIテストワコー（和光純薬）にて測定した。

5 (7) ペアフィード方法

同期方式給餌装置を用いて、BDNF投与群とvehicle投与群の摂食量が同じとなるように制御を行った。

(8) BDNFの連日投与による体熱産生促進ならびにエネルギー代謝亢進作用

10 *db/db*マウスを、HbA1c値ならびに体重に偏りがないようにして下記の3群に群分けした（7匹/群）。第1群：vehicle投与群（自由摂食）、第2群：vehicle投与群（ペアフィード）（BDNF投与群と同量の溶媒単独を投与）、第3群：20mg/kg BDNF投与群。BDNFを20mg/kgの投与量で連日皮下投与し、13日目に体重、摂食量並びに体温を測定した。その結果をそれぞれ、図5、図6、図7に示す。BDNF投与群と同量にペアフィードしたvehicle群に対し、BDNF投与群では、体重に変化は認められなかったがvehicle投与群に認められる体温低下を有意に抑制した。このことから、BDNFがエネルギー代謝を亢進する作用を有することが推察されたため、15～18日目に基礎代謝量の指標である安静時の酸素消費量を測定した。その結果を図8に示す。ペアフィードしたvehicle群に対しBDNF投与群では、有意な酸素消費量の増加が認められた。これらの結果により、摂食量を同量にコントロールしたマウスとの比較において、BDNF投与により、体熱産生ならびに基礎代謝が亢進されることがわかった。

(9) BDNFの単回投与による体熱産生亢進作用

25 *db/db*マウスを、血糖値ならびに体重に偏りがないように3群に群分けした。第1群：vehicle投与群（自由摂食）、第2群：vehicle投与群（絶食）（BDNF投与群と同量の溶媒を投与直後、給餌を中止し、以降絶食状態とした）、第3群：BDNF投与群（絶食）（BDNF投与後、上記と同様に絶食状態とした）。BDNFを125mg/kg（3匹/1群）または20mg/kg（7匹/1群）の投与量で単回皮下投与した。0、3、6、24時間目

に体温を測定した。それらの結果をそれぞれ、図9および図10に示す。図9はBDNF 125mg/kg投与群(—△—)、vehicle投与群(自由摂食)(—●—)およびvehicle投与群(絶食)(—■—)のデータを、図10はBDNF 20mg/kg投与群(—△—)およびvehicle投与群(絶食)(—●—)のデータ(vehicle投与群(自由摂食)はなし)を示す。これらの結果から明らかなように、絶食条件下において、vehicle群に対しBDNF投与群では、vehicle投与群に認められる体温低下を有意に抑制した。BDNFによる体熱亢進作用は、BDNF投与後24時間以内に認められる速やかなものであることがわかった。

実施例4：1型糖尿病動物に対するBDNFの体熱産生亢進作用

(1) 実験材料と方法

試薬：BDNFはリジェネロン社より購入して使用した。その他の試薬は市販の特級試薬を用いた。

実験動物：雄性Wistarラット(SPF規格)を日本チャールス・リバーより購入した。予備飼育の後、10週齢で実験に使用した。動物は飼育環境として温度は $23 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度は $55 \pm 10\%$ に設定され、照明は8:00~20:00点灯、20:00~8:00消灯のサイクルに設定された部屋で飼育した。予備飼育中は固形飼料(CE-2、日本クレア)および滅菌水道水を自由摂取させたが、実験に供する際には必要に応じて絶食処置を施した。

(2) ストレプトゾトシン(STZ)、BDNF投与液の調製

STZを10mMクエン酸ナトリウム(pH5.5)に溶解し、32.5mg/mlの溶液を調製した。なお、STZ投与液は用時調製とし、溶解後5分以内に使用した。BDNF投与液は下記リン酸緩衝液からなる溶媒(vehicle)で20mg/mlに希釈し、実験に供した。溶媒としては1%マンニトールと0.01%Tween 80を含むリン酸緩衝液(10mMリン酸、150mM塩化ナトリウム、pH7.0 \pm 0.2)を用いた。

(3) 体温の測定方法並びに統計解析

体温は、直腸体温計(Physitemp Instruments Inc. Model BAT-12)を用いて測定した。

測定値について、Studentのt検定を行った。

(4) STZ誘発糖尿病の惹起および高血糖動物の選別

予備飼育の完了したラットにSTZ投与液を2ml/kgの割合（STZとして65mg/kg）で腹腔内に投与した。STZ投与5日後に血糖値を測定し、
5 高血糖になっていないラット（300mg/dl以下）および明らかに状態の悪いラットは実験から除外した。

(5) BDNFの単回投与による体熱産生亢進作用

STZ誘発糖尿病ラットについて、STZ投与5週間後に体重、体温に偏りが
10 ないように2群に群分けした（4匹/群）。第1群：vehicle投与群、第2群：BDNF投与群とした。BDNFを20mg/kgの投与量で単回皮下投与し、投与後絶食した。0、6、24時間目に体温を測定した。その結果を図11に示す（図中、—△—：BDNF投与群；—■—：vehicle投与群）。

図11に示されるとおり、絶食条件下において、vehicle投与群に対し
15 BDNF投与群では、vehicle投与群に認められる体温低下を有意に抑制した。BDNFによる体熱亢進作用は、高インスリン血症を呈する肥満糖尿病動物（db/dbマウス）だけでなく、インスリン欠乏の非肥満1型糖尿病動物に対しても認められることが明らかとなった。

実施例5：寒冷暴露したマウスに対するBDNFの体温低下抑制作用

(1) 実験材料と方法

20 試薬：BDNFはリジェネロン社より購入して使用した。その他の試薬は市販の特級試薬を用いた。

実験動物：雄性C57BL/Ksj-db/dbマウス（SPF規格）を日本クレアより購入した。2週間の予備飼育の後、12週齢で実験に使用した。マウスは飼育環境として温度は23±2℃、湿度は55±10%に設定され、照明
25 は8：00～20：00点灯、20：00～8：00消灯のサイクルに設定された部屋で飼育した。予備飼育中は固形飼料（CE-2、日本クレア）および滅菌水道水を自由摂取させたが、実験に供する際には必要に応じて絶食処置を施した。

(2) BDNF投与液の調製

BDNF投与液は下記リン酸緩衝液からなる溶媒（vehicle）で20m

g/mlに希釈し、実験に供した。溶媒としては1%マンニトールと0.01% Tween 80を含むリン酸緩衝液(10mMリン酸、150mM塩化ナトリウム、pH7.0±0.2を用いた。

(3) 体温の測定方法並びに統計解析

- 5 体温は、直腸体温計(Physitemp Instruments Inc. Model BAT-12)を用いて測定した。

測定値について、Studentのt検定を行った。

(4) 寒冷暴露したマウスに対するBDNFの体温低下抑制作用

- 10 *db/db*マウスを体重、体温を指標に2群に群分けした(5匹/群)。第1群: vehicle投与群、第2群: BDNF投与群とした。BDNFを20mg/kgの投与量で単回皮下投与し、投与後、寒冷状態(15℃)の恒温槽内にマウスをケージごと留置した。餌および水は自由に摂取させた。投与後0、1、2、4、6、8時間目に各時点に体温を測定した。その結果を図12に示す(図中、—△—: BDNF投与群; —■—: vehicle投与群)。

- 15 図12に示されるとおり、寒冷状態に暴露した*db/db*マウスにおいて、vehicle投与群では体温が速やかに低下した。一方、BDNF投与群ではvehicle投与群で認められる体温低下が有意に抑制された。*db/db*マウスに対するBDNFの体温低下抑制作用は、絶食条件下だけでなく、寒冷条件下においても有効であることがわかった。

20 実施例6

- db/db*マウスを体重、HbA1c値に偏りがないように2群に群分けした(5匹/群)。第1群: vehicle投与群、第2群: BDNF投与群とした。一晚絶食絶水処置を施したマウスにBDNFを20mg/kgの投与量で単回皮下投与し、4時間後に、200μl生理食塩水に溶解した5μCiのD-[U-¹⁴C] glucose (NEN社)をエーテル麻酔下で静脈内に投与した。投与後直ちにマウスを密閉式代謝ケージ(メタボリカ、杉山元医理器)に1ケージ当たり1匹ずつ入れた。代謝ケージには一定流速(約200ml/min)で空気を循環させ、ケージからの出口に10% NaOH溶液を含むトラップ管を接続し、呼気中に二酸化炭素として放出された¹⁴Cの放射活性を経時的(D-
- 25

5 [U-¹⁴C] glucose投与時(0分) および15、30、60、90、120分後)に測定した。採取した10% NaOH溶液1mlを液体シンチレーター(Hionicfluor; ヒューレード・パッカード社) 5mlと混和し、液体シンチレーションカウンター(ヒューレード・パッカード社)を用いて¹⁴C放射活性の測定を行った。その結果を図13に示す(図中、-△-: BDNF投与群; -■-: vehicle投与群)。

図13に示されるとおり、D-[U-¹⁴C] glucoseの投与30分後から120分後の解析終了時まで、vehicle投与と比べて、BDNF投与による有意な糖代謝(糖の酸化)の増加が認められた。

10 産業上の利用の可能性

本発明の自律神経障害治療剤は、様々な原因により低下した自律神経系、特に、交感神経系を賦活し、末梢臓器のエネルギー代謝低下を改善する作用を有する。これを投与することにより、起立性低血圧や体温調節異常など、従来、治療の難しかった自律神経障害患者を治療することが可能になった。

15 本発明のエネルギー代謝改善剤は、脂質代謝異常または糖代謝異常の治療剤として用いることができる。また、本発明の体熱産生改善剤は例えば、冷え性、低体温症の改善剤、冷所における体温低下の抑制剤または低下した体温を正常に近づけるもしくは戻す剤、凍傷の予防剤としても用いることができる。

請 求 の 範 囲

1. 神経栄養因子を有効成分とする自律神経障害治療剤。
2. 神経栄養因子を有効成分とする自律神経失調症治療剤。
- 5 3. 自律神経失調症の原因が自律神経障害である請求項2記載の自律神経失調症治療剤。
4. 自律神経障害が循環器障害、呼吸器障害、消化器障害、泌尿器障害、体温調節障害、瞳孔障害または神経内分泌障害である請求項1または3記載の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤。
- 10 5. 神経栄養因子を有効成分とするストレスが原因の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤。
6. 神経栄養因子が $trkA$ 、 $trkB$ および／または $trkC$ 受容体アゴニストである請求項1～5記載の自律神経障害治療剤。
7. 自律神経障害が、糖尿病性自律神経障害、体温調節障害、循環器障害または起立性低血圧である請求項1記載の自律神経障害治療剤。
- 15 8. 神経栄養因子を有効成分とする末梢組織のノルエピネフリン含量低下抑制剤。
9. 末梢組織が、褐色脂肪組織、心臓および／または筋肉である請求項11記載の末梢組織のノルエピネフリン含量低下抑制剤。
- 20 10. 神経栄養因子を有効成分とするエネルギー代謝改善剤。
11. 神経栄養因子を有効成分とする体熱産生改善剤。
12. 神経栄養因子の自律神経障害治療剤または自律神経失調症治療剤の調製のための使用。
- 25 13. 自律神経障害または自律神経失調症を有する患者に、治療に必要な量の神経栄養因子を投与することを特徴とする自律神経障害または自律神経失調症を治療する方法。

1/7

図 1

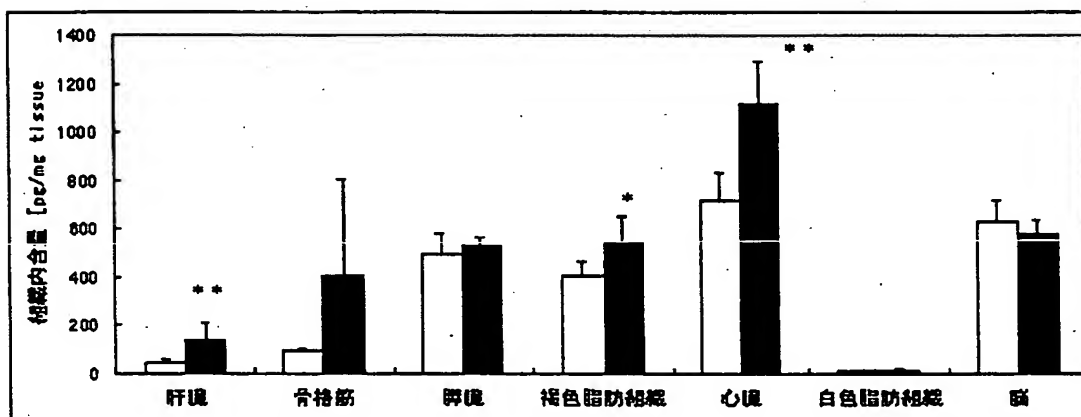
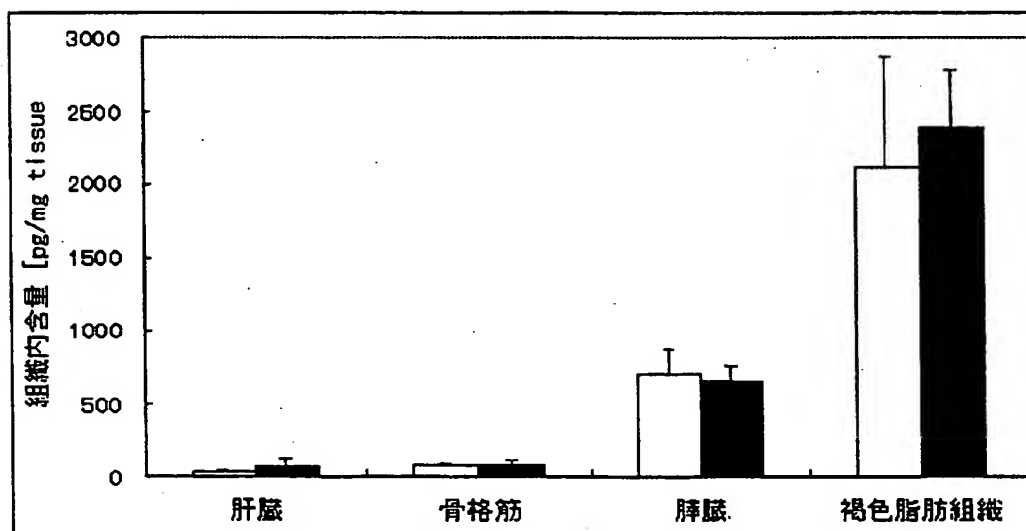


図 2



2/7

図 3

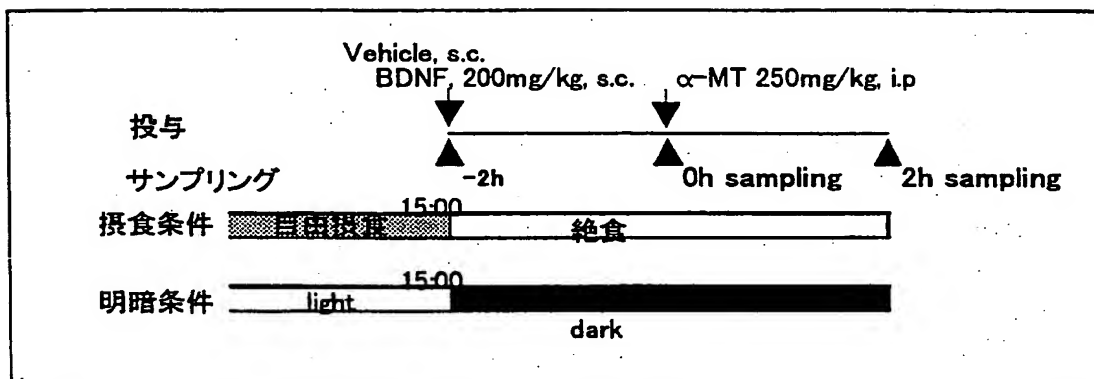
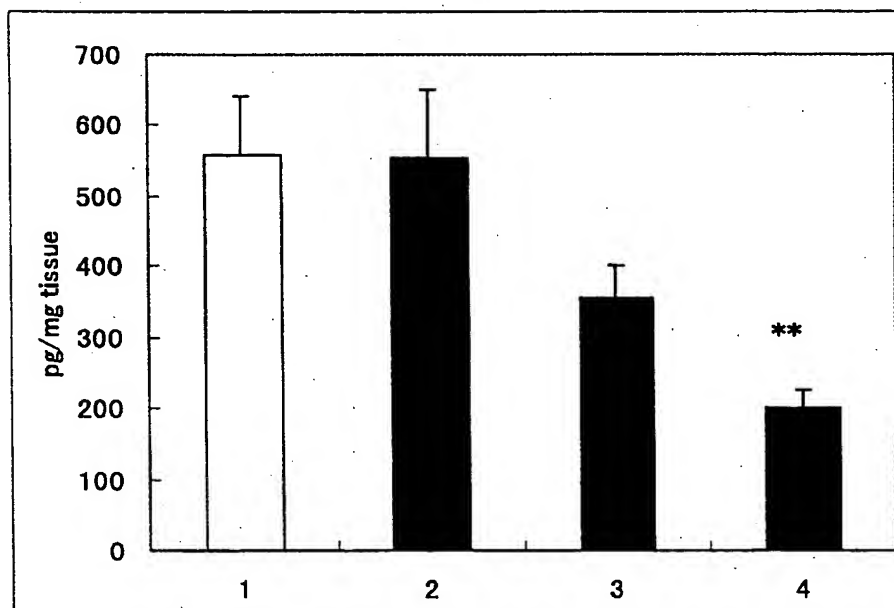


図 4



3 / 7

図 5

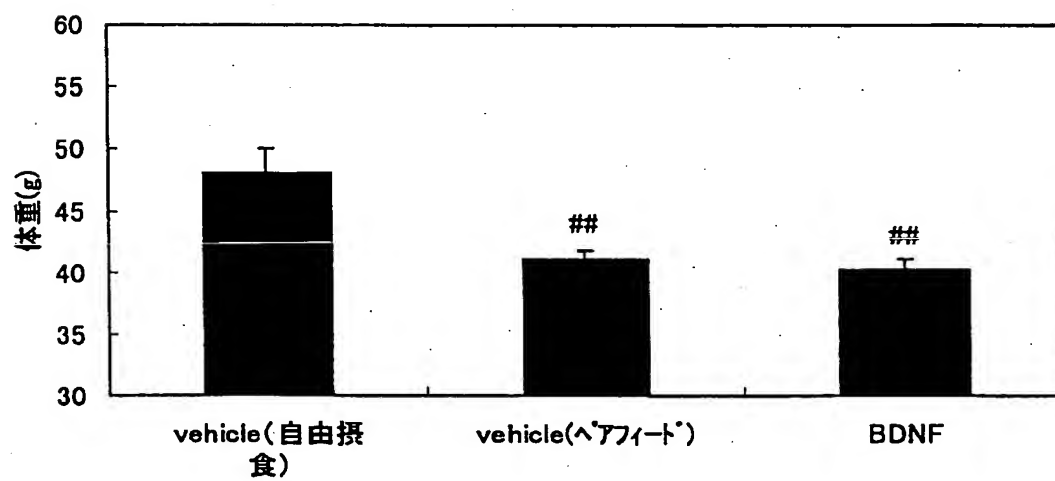
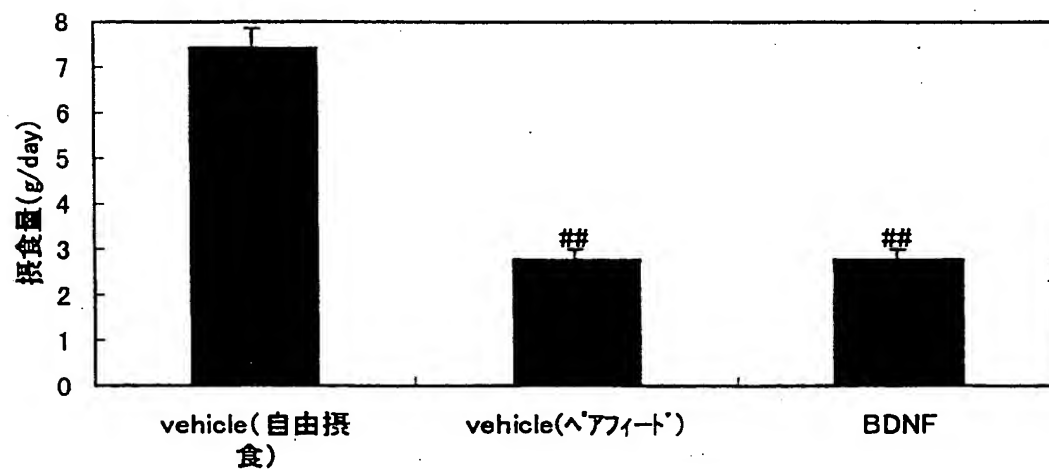


図 6



4/7

図 7

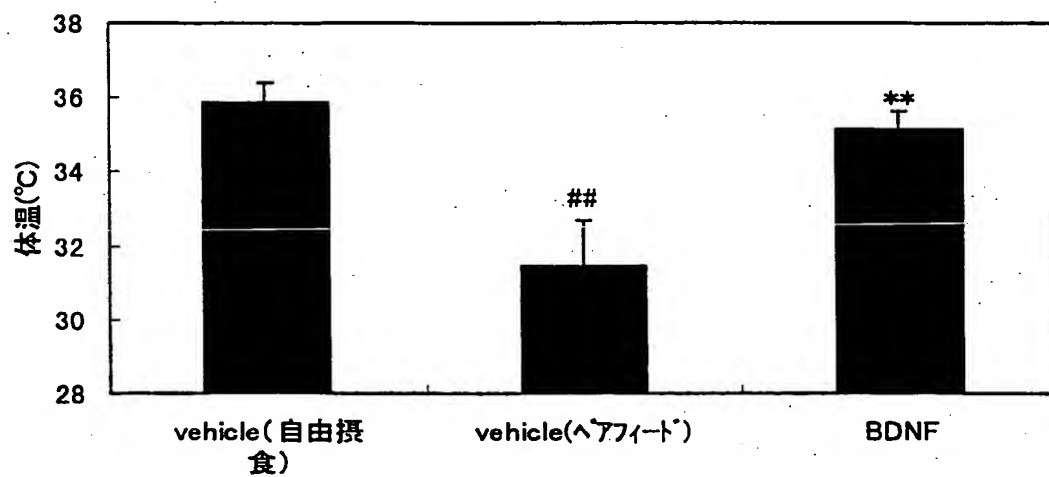
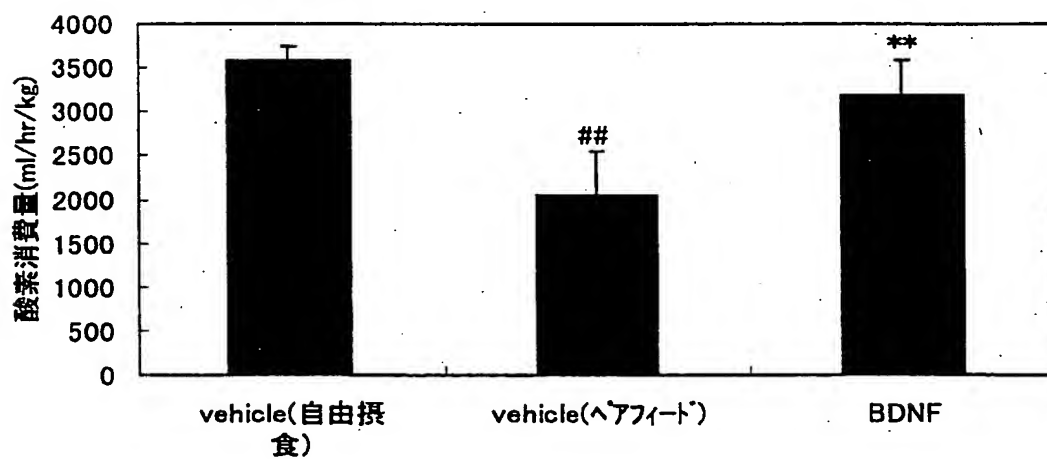


図 8



5/7

図 9

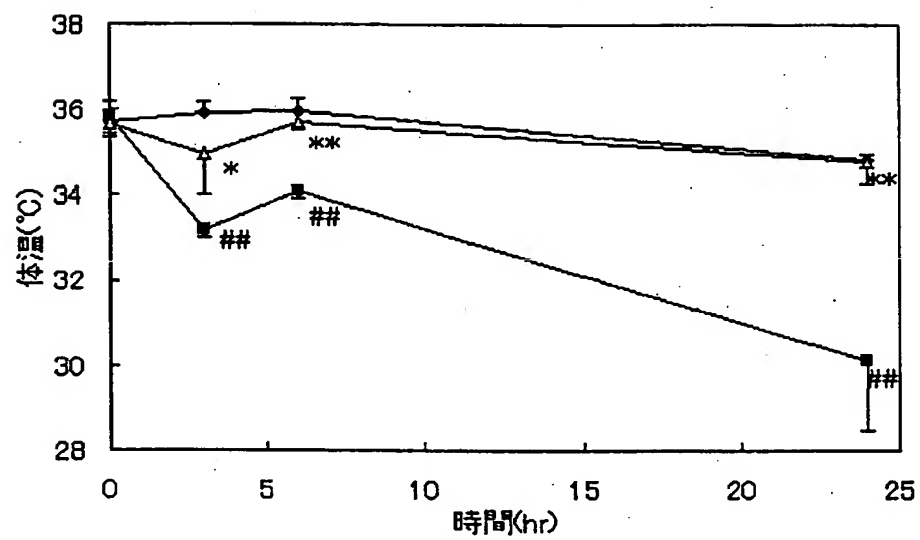
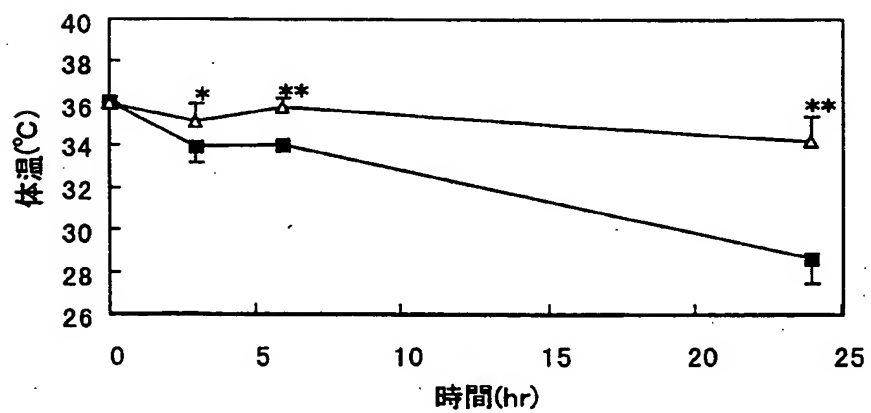


図 10



6/7

図 1 1

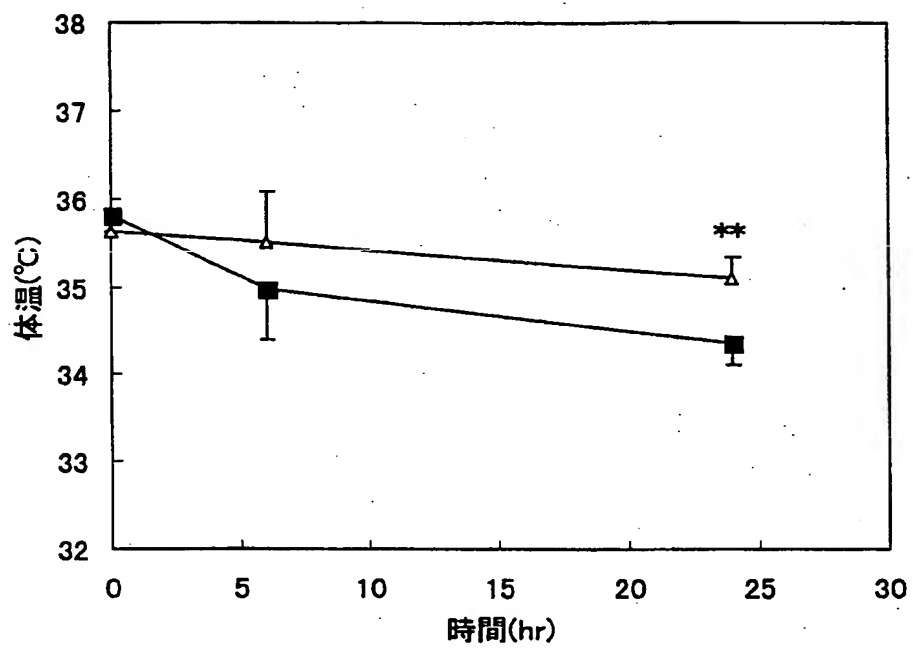
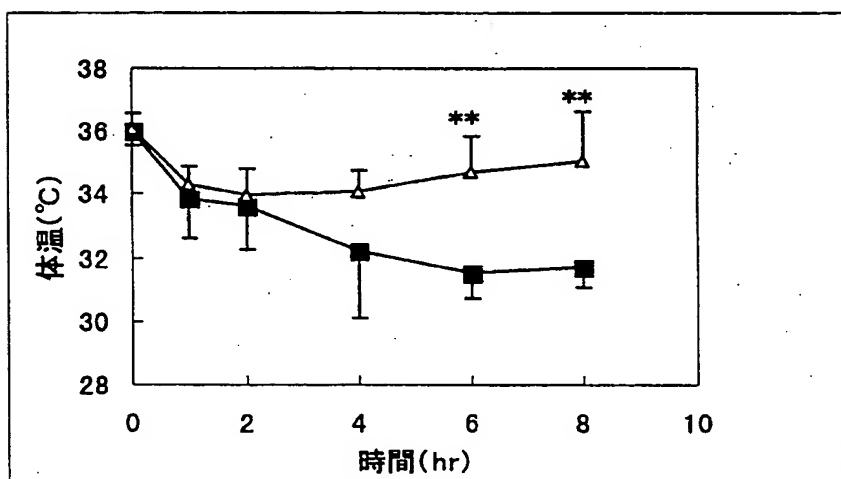
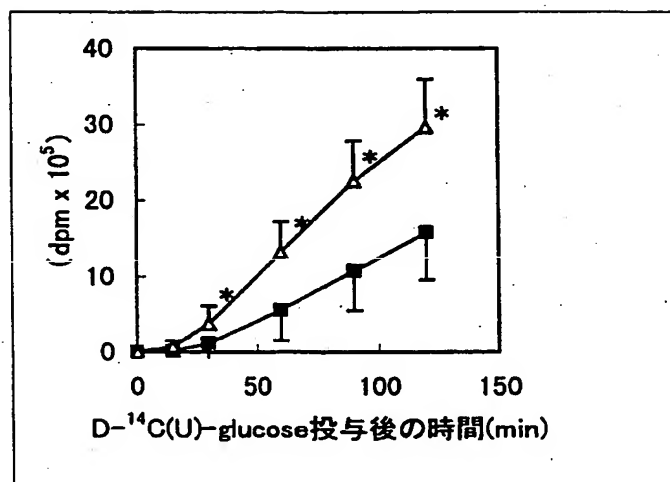


図 1 2



7/7

図 1 3



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/02265

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER Int.Cl ⁷ A61K38/18, A61K45/00, A61P25/02, A61P9/00, A61P1/00, A61P13/00, A61P3/10, A61P3/08, A61P11/00, A61P5/00, A61P27/02 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) Int.Cl ⁷ A61K38/18, A61K45/00, A61P25/02, A61P9/00, A61P1/00, A61P13/00, A61P3/10, A61P3/08, A61P11/00, A61P5/00, A61P27/02 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	Database MEDLINE on STN, US National Library of Medicine, (Bethesda, MD, USA), No.20110996, Ono, M. et al., 'Intermittent administration of brain-derived neurotrophic factor ameliorates glucose metabolism in obese diabetic mice,' abstract & Metabolism: Clinical and Experimental, January 2000, Vol. 49, No.1, p.129-133	1-12
X	Ono M et al., 'Brain-derived neurotrophic factor reduces blood glucose level in obese diabetic mice but not in normal mice' Biochem. Biophys. Res. Commun., 1997, Vol.238, No.2, p.633-7, Full text	1-12
X	Wu, J. et al., 'The protective effects of nerve growth factor on peripheral nerve injury' Yaoxue Xuebao, 1998, Vol. 33, No. 3, p. 180-183, Abstract	8-9
X	Hayakawa K., et al., 'Nerve growth factor prevents neurotoxic effects of cisplatin, vincristine and taxol, on adult rat sympathetic ganglion explants in vitro' Life Sciences, 1994, Vol.55, No.7, p.519-25, Abstract Edwards R. H., et al., 'Use of vaccinia virus vectors to	1-7, 12
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 04 July, 2000 (04.07.00)		Date of mailing of the international search report 11 July, 2000 (11.07.00)
Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office		Authorized officer
Facsimile No.		Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/02265

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	study protein processing in human disease. Normal nerve growth factor processing and secretion in cultured fibroblasts from patients with familial dysautonomia' J. Clin. Invest., 1988, Vol.82, No.1, p. 44-47, Abstract	1-7, 12
A	Polak M., et al., 'Nerve growth factor induces neuron-like differentiation of an insulin-secreting pancreatic beta cell line. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993. Vol.90, No.12, p.5781-5785, Full text	1-12
A	Tazi, A. et al., 'Neurotrophin-3 increases intracellular calcium in a rat insulin-secreting cell line through its action on a functional TrkC receptor' J. Biol. Chem., 1996, Vol.271, No.17, p.10154-10160, Full text	1-12
A	Shibayama E., et al., 'Cellular localization of the Trk neurotrophin receptor family in human non-neuronal tissues' Am. J. Pathol., 1996, Vol.148, No.6, p.1807-1818, Full text	1-12
A	Rosenbaum, T., et al., 'Pancreatic beta cells synthesize and secrete nerve growth factor' Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998, Vol.95, No.13, p.7784-7788, Abstract	1-12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/02265

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 13
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
The subject matter of claim 13 relates to a method for treatment of the human body by therapy, which does not require an international search report by this International Search Authority in accordance with PCT Article 17(2)(a)(i) and Rule 39.1(iv).
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out; specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K38/18, A61K45/00, A61P25/02, A61P9/00,
A61P1/00, A61P13/00, A61P3/10, A61P3/08, A61P11/00,
A61P5/00, A61P27/02

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl. A61K38/18, A61K45/00, A61P25/02, A61P9/00,
A61P1/00, A61P13/00, A61P3/10, A61P3/08, A61P11/00,
A61P5/00, A61P27/02

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)
CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
P X	Database MEDLINE on STN, US National Library of Medicine, (Bethesda, MD, USA), No.20110996, Ono, M. et al., 'Intermittent administration of brain-derived neurotrophic factor ameliorates glucose metabolism in obese diabetic mice,' abstract & Metabolism: Clinical and Experimental, January 2000, Vol. 49, No.1, p.129-133	1-12

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

04.07.00

国際調査報告の発送日

11.07.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

新留 豊



4C

9639

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き). 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	Ono M et al., 'Brain-derived neurotrophic factor reduces blood glucose level in obese diabetic mice but not in normal mice' Biochem. Biophys. Res. Commun., 1997, Vol.238, No.2, p.633-7, 全文参照	1-12
X	Wu, J. et al., 'The protective effects of nerve growth factor on peripheral nerve injury' Yaouxue Xuebao, 1998, Vol. 33, No. 3, p. 180-183, 要約参照	8-9
X	Hayakawa K., et al., 'Nerve growth factor prevents neurotoxic effects of cisplatin, vincristine and taxol, on adult rat sympathetic ganglion explants in vitro' Life Sciences, 1994, Vol.55, No.7, p.519-25, 要約参照	1-7, 12
X	Edwards R. H., et al., 'Use of vaccinia virus vectors to study protein processing in human disease. Normal nerve growth factor processing and secretion in cultured fibroblasts from patients with familial dysautonomia' J. Clin. Invest., 1988, Vol.82, No.1, p. 44-47, 要約参照	1-7, 12
A	Polak M., et al., 'Nerve growth factor induces neuron-like differentiation of an insulin-secreting pancreatic beta cell line. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1993. Vol.90, No.12, p.5781-5785, 全文参照	1-12
A	Tazi, A. et al., 'Neurotrophin-3 increases intracellular calcium in a rat insulin-secreting cell line through its action on a functional TrkC receptor' J. Biol. Chem., 1996, Vol.271, No.17, p.10154-10160, 全文参照	1-12
A	Shibayama E., et al., 'Cellular localization of the Trk neurotrophin receptor family in human non-neuronal tissues' Am. J. Pathol., 1996, Vol.148, No.6, p.1807-1818, 全文参照	1-12
A	Rosenbaum, T., et al., 'Pancreatic beta cells synthesize and secrete nerve growth factor' Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1998, Vol.95, No.13, p.7784-7788, 要約参照	1-12

第Ⅰ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT 17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 13 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
つまり、
請求の範囲 13 は、治療による人体の処置方法に関するものであって、PCT 17条(2)(a)(i) 及び PCT 規則 39.1(iv) の規定により、この国際調査機関が国際調査を行うことを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

第Ⅱ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。